

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 04-021637

(43)Date of publication of application : 24.01.1992

---

(51)Int.Cl.

A61K 47/36  
B01J 20/26  
C08B 37/08  
C08F 8/30  
C08J 3/12  
G01N 30/48  
G01N 33/543  
G01N 33/548

---

(21)Application number : 02-122459

(71)Applicant : SOKEN KAGAKU KK

(22)Date of filing : 11.05.1990

(72)Inventor : MORIKAWA SHUNICHI  
HANADA KATSUHIRO  
TAKEMOTO KIYOTAKA  
ARAI TAKAAKI

---

(54) HIGH POLYMER FINE GRAIN WHOSE SURFACE IS MODIFIED WITH CHITIN DERIVATIVE OR CHITOSAN AND ITS PRODUCTION

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain high polymer fine grains having a hydrophilic and positively ionized surface and improved in affinity to a biological high polymer by modifying the surface of high polymer fine grains with a chitin derivative or chitosan.

CONSTITUTION: High polymer fine grains having an active groups reactive with a carbodiimide compound, preferably a carboxyl latex having 0.2–10 $\mu\text{m}$  grain size is made to react with a compound expressed by the formula RN=C=NR' (R is ethyl and R' is dimethylaminopropyl or R and R' are cyclohexyl together) at ordinary temperature and successively subjected to a reaction with a chitin derivative (preferably diethylaminoethylchitin) or chitosan added at ordinary temperature. The resultant modified high polymer fine grains are used as a latex for immobilization of bioaffinitive ingredient, physiologically active substance and medicine, etc., latex for immunodiagnostic agent and endotoxin removing agent.

---

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑨日本国特許庁(JP) ⑩特許出願公開  
 ⑫公開特許公報(A) 平4-21637

⑪Int. Cl.<sup>3</sup>  
 A 61 K 47/36  
 B 01 J 20/26

識別記号 B 7624-4C  
 L 2104-4G  
 H 2104-4G※

⑬公開 平成4年(1992)1月24日

審査請求 未請求 請求項の数 5 (全4頁)

④発明の名称 キチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子並びにその製造方法

⑤特 願 平2-122459  
 ⑥出 願 平2(1990)5月11日

⑦発 明 者 森 川 俊 一 埼玉県新座市栗原2-4-39  
 ⑧発 明 者 花 田 克 裕 埼玉県入間市仏子603-1 32-704号  
 ⑨発 明 者 竹 本 清 孝 埼玉県狭山市入間川2-24-27  
 ⑩発 明 者 新 井 孝 昭 埼玉県草加市谷塚町1203  
 ⑪出 願 人 総研化学株式会社 東京都豊島区高田3丁目29番5号  
 ⑫代 理 人 弁理士 佐田 守雄 外2名

最終頁に続く

### 明細書

#### 1. 発明の名称

キチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子並びにその製造方法

#### 2. 特許請求の範囲

1. キチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子。
2. キチン誘導体がジエチルアミノエチルキチニンである請求項1記載の高分子微粒子。
3. 高分子微粒子がカルボキシルラテックスである請求項1記載の高分子微粒子。
4. カルボキシルラテックス微粒子に式RN=C=NR' (式中Rはエチル基、R'はジメチルアミノプロピル基又はR、R'は共にシクロヘキシリ基を示す) を有するカルボジイミド化合物を反応させ、次いでキチン誘導体又はキトサンを反応させることを特徴とするキチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子の製造方法。
5. キチン誘導体がジエチルアミノエチルキチニンである請求項1記載の高分子微粒子。

ンである請求項4記載の高分子微粒子の製法。

#### 3. 発明の詳細な説明

##### 【産業上の利用分野】

本発明は、蛋白質、核酸等の生体成分の分離精製に使用されるクロマトグラフィーの吸着材、ドラッグ・デリバリー・システム用担持体、免疫診断用ラテックスなどに有用なキチン質又はキトサンを表面に修飾させた高分子微粒子並びにその製造方法に関する。

##### 【従来の技術】

従来、抗原抗体反応を利用した免疫学的臨床検査診断薬に疎水性表面を有するポリスチレンラテックスが用いられている (J. Colloid Interface Sci., 71, 350 (1979))。しかし、ポリスチレンラテックスは疎水性であるため、感作安定性、保存安定性が欠けるため、疎水性を改質するためステレンにメタクリル酸等を共重合させた微粒子高分子の研究、開発も行われている。

## (発明が解決しようとする課題)

上記ステレンラテックスにおいては、感作安定性、保存安定性に欠け、またメタクリル酸等を共重合させたステレン系ラテックスでもその感作安定性、保存安定性が十分でないばかりでなく、これらステレン系ラテックスにおいては非特異的な凝集反応を有し、抗原或は抗体を固定化した免疫学的血清、血漿、尿等の高感度、定量分析用ラテックスとしては満足するものではない。

本発明はラテックスを親水性に改良し、更に好適には正荷電性へ変換させて動物細胞、免疫蛋白質等の生体高分子に対する親和性を向上させ蛋白質、核酸等の生体成分に特異的な吸着性を有し、ドラッグ・デリバリー・システム用担持体、免疫診断用ラテックス等として有用な高分子微粒子並びにその製造方法を提供することを目的とするものである。

## (課題を解決するための手段)

本発明等はバイオアフィニティー成分、生

導体又はキトサンを反応させることを特徴とするキチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子の製造方法である。

本発明に使用する高分子微粒子はカルボジイミド化合物と反応する活性基を有する高分子化合物であり、カルボキシルラテックスが好適である。そしてその粒径は製品の用途により適宜選択されるが、大体0.1~10μmが普通使用される。

この高分子微粒子に修飾されるキチン誘導体としては、水溶性のキチン誘導体、例えば、ジエチルアミノエチルキチン、カルボキシメチルキチン、ヒドロキシプロビルキチン、ヒドロキシエチルキチン、硫酸エステルキチン、リン酸エステルキチン等が好適に用いられ、本発明者等が先に発表したジエチルアミノエチルキチン (Polymer Bulletin, 21, 13-17 (1989)) が最も適している。キトサンもキチンを脱アセチル化したものでキチンの構成単位であるグルコサミンを有し、しかも正電

理活性物質、薬剤などの固定、免疫学的臨床検査診断薬、エンドトキシン除去剤として使用される高分子微粒子を開発する目的で蛋白質、酵素等の生体高分子に対して選択的な吸着性及び親和性を有するキチンの構成単位であるグルコサミンを有し、しかも好ましくは正荷電をも有するキチン誘導体並びにキトサンを高分子微粒子の表面に修飾させてドラッグ・デリバリー・システム用担持体、免疫診断用ラテックス等に極めて使用し易い高分子微粒子形態で提供し得ること並びにそのキチン誘導体、キトサンの高分子物への修飾方法を見出し本発明を完成した。

本発明は、キチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子である。そしてカルボキシルラテックス微粒子を式  
 $RN = C = NR'$  (式中Rはエチル基、R'はジメチルアミノプロビル基又はR、R'は共にシクロヘキシル基を示す) で表わされるカルボジイミド化合物と反応させ、次いでキチン誘

導体又はキトサンを反応させることを特徴とするキチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子の製造方法である。

以上のように、本発明の高分子微粒子は表面にキチン誘導体又はキトサンを修飾したものであるから、表面が正電荷性及び親水性を有する微粒子と改質され、微粒子であるため表面積が大で、しかも表面の電荷密度が高くその表面活性を利用して各種の蛋白質、酵素などの生体高分子の吸着、脱着及び抗原又は抗体を固定化するイムノミクロスファアによる診断剤として有用に使用できると共に、医薬品の副作用原因の一つである発熱物質エンドトキシンを選択的に吸着除去剤としての用途も期待される。また保水性を利用し整髪剤などの化粧品成分材料としても使用できる極めて有用なものである。

上記キチン誘導体又はキトサンを有する高分子微粒子を製造するには、カルボキシル基などの活性基を有する高分子微粒子、好適にはカルボキシルラテックス、この物質は例え

### 特開平4-21637(3)

ば、ステレンモノマーを単独で重合させ核粒子とした後、アクリルアミドを添加し、2段重合法により精製したステレン-アクリルアミド共重合ラテックスを加水分解することにより得られる。

この高分子微粒子に水を媒体として水溶性の一般式  $RN=C=NR'$  (式中、R, R'は前記と同一意義を有す。) で表わされるカルボジイミド化合物、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド、1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミドを常温で反応させ、次にチキン導体又はキトサンを加え約12時間位常温で反応すると本発明のキチン導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子が得られる。

本方法におけるキチン導体及びキトサンの使用量は高分子のカルボキシル基に対し、キチン導体又はキトサンのアミノ基として1~8倍モル量が適当であり、4~8倍モル量が好適である。又、水溶性カルボジイミド

化合物の使用量は、キチン導体又はキトサンのアミノ基に対し0.5~1.5倍モル量が適当であり、好適には0.8~1.2倍モル量である。

次に本発明の微粒子の製造法並びに得られた物質の性質を記載する。

#### [実施例]

##### 例 1

表面電荷量 $89.5\mu\text{当量/g}$ ・ラテックス、粒径 $0.6\mu\text{m}$ 、比表面積 $10\text{m}^2/\text{g}$ ・ラテックスのカルボキシルラテックスの分散液（濃度 $0.0157\text{g/mL}$ ） $400\text{mL}$ に1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 $0.0108\text{g}$ を加え、室温で2時間攪拌する。次いで1%ジエチルアミノエチルキチン水溶液 $63\text{g}$ （ラテックス中のカルボキシル基に対してジエチルアミノエチルキチンのアミノ基として2倍モル量）を加え、12時間反応させ、次いで2M酢酸緩衝液（pH=4）を加えて2時間攪拌し得られた生成物を汎別する。その後水で洗浄し、減

圧乾燥しジエチルアミノエチルキチン修飾ラテックス $0.68\text{g}$ を得た。このものの表面荷電量は $24.6\mu\text{当量/g}$ ・ラテックスであった。また、得られたラテックスの接触角( $\theta$ )は $26.4$ であった。なお表面荷電量はコロイド滴定により測定し、接触角は自動式PH型接触角計で測定した。

#### 例 2~3

1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(WSC)及び1%ジエチルアミノエチルキチン水溶液(DEAE-キチン水溶液)を第1表に示す量加えた以外は例1と同様の操作を行い、DEAE-キチン修飾ラテックスを得た。この例の収量、表面荷電量及び接触角は第1表の通りであった。なお、1%DEAE-キチン量はラテックス中のカルボキシル基に対してDEAE-キチンのアミノ基として4倍乃至8倍モル量である。

第 1 表

実施例	WSC (g)	1%DEAE- キチン水溶液 (g)	収量 (g)	表面荷電量 ( $\mu\text{当量/g}$ ・ ラテックス)	接触角 ( $\theta$ )
2	0.0216	12.6	0.50	152.8	28.7
3	0.0432	25.2	0.70	142.2	40.2

#### 例 4~6

1%DEAE-キチン水溶液を1%キトサン水溶液に代え、WSC及び1%キトサン水溶液量を第2表に示す量を加えた以外は実施例1と同様の操作を行い、キトサン修飾ラテックスを得た。この例の収量、表面荷電量及び接触角は第2表の通りであった。なお、1%キトサン水溶液量はラテックス中のカルボキシル基に対してキトサンのアミノ基として2倍乃至8倍モル量である。

以下余白

第 2 表

実施例	WSC (g)	1%キトサン 水溶液 (g)	收量 (g)	表面荷電量 ( $\mu$ 当量/g <sup>2</sup> ) (ラテックス)	接触角 (°)
4	0.0108	2.4	1.03	12.6	—
5	0.0216	4.8	0.60	20.7	46.0
6	0.0432	9.6	0.60	28.6	61.0

例 7

表面荷電量  $38.5 \mu$  当量/g・ラテックス、濃度  $0.0175 \text{ g/mL}$  のカルボキシルラテックス水分散液  $40 \text{ mL}$  を用い、WSC  $0.0052 \text{ g}$ 、1%DEAE-キチン水溶液  $3.0 \text{ g}$  (ラテックス中のカルボキシル基に対してDEAE-キチンのアミノ基として2倍モル量) 加えた以外は、実施例1と同様の操作を行い、DEAE-キチン修飾ラテックス  $0.81 \text{ g}$ を得た。このものの表面荷電量は  $21.6 \mu$  当量/g・ラテックスであった。

例 8

1%DEAE-キチン水溶液を1%キトサン水溶液  $1.1 \text{ g}$  (ラテックス中のカルボキシル基に対してキトサンのアミノ基として2倍モル量)に代えた以外は、例7と同様の操作を行い、キトサン修飾ラテックス  $0.97 \text{ g}$ を得た。このものの表面荷電量は  $4.3 \mu$  当量/g・ラテックスであった。

## 【発明の効果】

本発明は微粒子上に親水性好ましくは更に正荷電をも有するキチンの構成単体を持つ物質を修飾した微粒子であり、これにより生体高分子に対する特異の親和性を有するためバイオアフィニティー成分、生理活性物質、薬剤などの固定、免疫診断薬用ラテックス、エンドトキシン除去剤として極めて広範囲の用途を有する物質を提供する有用な発明である。

特許出願人 総研化学株式会社  
代理人 弁理士 佐田守雄

## 第1頁の続き

⑤Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	府内整理番号
C 08 B 37/08	A	7624-4C
C 08 F 8/30	MHA	8016-4J
C 08 J 3/12	Z	7918-4F
G 01 N 30/48	P	7621-2J
	U	7621-2J
33/543	Q	7906-2J
33/548	B	7906-2J